第39卷 第5期
2022年9月

干 旱 区 研 究
ARID ZONE RESEARCH

Vol. 39 No. 5
Sep. 2022

不同供磷水平对紫花苜蓿根际微生物功能多样性的影响

邢鏻木， 李 强， 高原千惠， 李 宁
（新疆农业大学资源与环境学院/新疆土壤与植物生态过程重点实验室，新疆 乌鲁木齐 830052）

摘 要： 探讨不同供磷水平下紫花苜蓿根际微生物的代谢功能多样性，有助于进一步了解紫花苜蓿对肥料的高效利用机制。本研究设置5种不同供磷水平，通过田间试验，应用Biolog方法对紫花苜蓿根际微生物群落代谢特征进行研究。结果表明：(1) 施用磷肥可以显著提高紫花苜蓿根际微生物的代谢活性，供磷水平为P3(300 kg·hm^{-2})时，Simpson指数、Richness指数达到最大值，提高了微生物对不同分类碳源的利用。(2) 当磷肥浓度过高时，会显著降低微生物群落Simpson指数，同时也会降低微生物对各类碳源的利用率。(3) 主成分分析显示，不同供磷水平下根际微生物对不同碳源的利用率有显著差异，供磷水平为P4(450 kg·hm^{-2})时，微生物群落对各类碳源利用差异最小。

关键词： 紫花苜蓿；磷肥；根际微生物；代谢多样性

紫花苜蓿(*Medicago sativa*)是我国常见的多年生豆科植物，有着“饲草之王”的美称，含有丰富的营养物质，是中国精细饲草行业的重要资源[1]。2018年以来，国产苜蓿价格不断降低，种植面积逐渐缩小[2]。发展苜蓿产业成为提高牧草综合效益的当务之急，但由于苜蓿产业诸多限制因素，导致我国苜蓿产业发展缓慢[3]。研究表明，抑制紫花苜蓿产业发展的重要因素之一，是我国大部分耕地缺乏能被植物有效吸收和利用的磷，因此有效且合理地添加外源磷素提高紫花苜蓿的产量和品质，成为众多研究者的重要关注点[4]。王园园等[5-6]研究发现，施用磷肥是提高土壤养分，促进作物生长的重要手段，而且紫花苜蓿生长过程中需要大量磷素，磷是提高苜蓿产量的必需元素。张杰[7]研究表明，单施磷肥对紫花苜蓿干草总产量增产效果显著($P<0.05$)。虽然，磷素在苜蓿中仅占0.2%~0.4%，但它是苜蓿生理代谢过程中的重要参与者，并直接影响苜蓿植物体的细胞核形成、细胞分裂和遗传物质合成等关键生化过程[8]。紫花苜蓿是如何吸收利用土壤中的磷素，Wang等[9]研究发现，蒺藜苜蓿SPX1、SPX3蛋白参与调控植物磷稳态，具体表现为在低磷条件下增强磷饥饿反应，而在高磷条件下抑制这种反应。在土壤缺磷条件下，可以促使苜蓿根系分泌分解低磷土壤中磷酸铁中磷的物质，提供磷元素供植物吸收利用。而根系酸性分泌物直接影响植物对低磷土壤的抗逆性[10]。

根际微生物能直接参与和影响植物的生理过程，而且可以作为土壤肥力营养丰缺的指标之一[11-12]。根际微生物群落的代谢活性与生物功能多样性指数是2个直接表征微生物群落活性变化、解释微生物生态系统特性和环境状况的重要依据[13-14]。在自然环境下，科学施肥也可以有效调控土壤微生物对碳源的循环吸收再利用，显著增加土壤微生物群落的生长代谢活动和功能多样性[15]。徐接亮等[16]研究表明，油莎豆根际土壤细菌和真菌多样性随着施肥量的增加显著降低；Song等[17]研究发现，添加外源磷肥有可能会抑制沼泽土壤中氧含量，原因可能是磷肥导致微生物活性降低；单佩佩[18]研究发现，磷肥可以显著提高牡丹根际土壤中微生物的数量；施磷会影响土壤微生物繁衍和功能，但是对缺磷环境下土壤磷与微生物种群之间的关系缺乏清晰的认识[19]；Cory等[20]认为，磷肥对微生物群落的影响

收稿日期： 2022-03-10； **修订日期：** 2022-04-28
基金项目： 国家自然科学基金“制种苜蓿根瘤菌固氮效能对氮素输入的响应”(31760712)
作者简介： 邢鏻木(1997-)，女，硕士研究生，主要从事植物营养学研究. E-mail: 1374921868@qq.com
通讯作者： 李宁. E-mail: lining772@163.com

是增强了呼吸系统对碳源的响应。长期磷钾配施显著增强了根际微生物的代谢活性以及功能多样性及优势度指数[21]。因此，研究磷肥对苜蓿根际微生物影响，对改善土壤肥力和根际土壤微生物代谢活性，促进苜蓿根系养分吸收，提高苜蓿产量具有实际意义。基于此，本研究以不同供磷水平作为试验变量，利用Biolog技术，对紫花苜蓿根际微生物功能多样性进行分析，阐明不同供磷水平对紫花苜蓿根际微生物代谢功能多样性的影响，为提高苜蓿养分利用率和产量提供一定的理论依据。

1　材料与方法

1.1　试验材料

供试品种为"新牧一号"紫花苜蓿，由新疆农业大学三坪实习农场牧草种子繁育基地提供。供试肥料为磷酸一铵（含 P_2O_5 61%、含N 12%）、尿素（含N 46%）、硫酸钾（含 K_2O 40%）。

1.2　试验区概况

试验在新疆农业大学三坪实习农场牧草与草坪试验站进行，位于天山北麓，准噶尔盆地南缘，地理位置为43°56′N，87°35′E，海拔580 m，属于中温带大陆性气候，年均降水量228.8 mm，干旱少雨，全年平均最高气温25.7 ℃，最低气温−15.2 ℃，昼夜温差较大。试验区为典型的山前冲积平原，原生境为砾质荒漠，后开垦为农田。

试验地耕层（0~20 cm）土壤基本理化性质：速效磷15.64 mg·kg^{-1}，碱解氮22.39 mg·kg^{-1}，速效钾250.34 mg·kg^{-1}，有机质14.64 g·kg^{-1}，pH为8.1。

1.3　试验设计

采用单因素（不同供磷水平）五水平完全随机区组试验，5个磷肥梯度分别为：0 kg·hm^{-2}（P0）、75 kg·hm^{-2}（P1）、150 kg·hm^{-2}（P2）、300 kg·hm^{-2}（P3）、450 kg·hm^{-2}（P4），参考陈波浪等[22]磷肥梯度设计，5处理3重复共15个小区，小区面积为27 m^2（4.5 m×6 m），小区之间间隔为0.5 m。各小区采取完全随机区组排列。

2021年5月3日播种，选取颗粒饱满颜色纯正的种子进行播种，播种量为3 kg·hm^{-2}，行距为20 cm，试验小区灌溉采用滴灌方式进行，水源为地下井水。每个小区施肥量按照120 kg·hm^{-2}尿素+60 kg·hm^{-2}硫酸钾+磷肥施用，其中磷肥和钾肥作为底肥施用，氮肥作为追肥。各小区除磷肥水平不同外，浇水、除草、间苗均采用统一标准。

1.4　土壤采集与处理

在紫花苜蓿盛花期(7月25日)使用五点取样法取样，挖出植株后，去除植株根部区域0~2 cm外围土，取紧贴于植株根表土样。将收集土样装入无菌自封袋，做好标记，立即带回实验室，研磨后过1 mm筛，−80 ℃冰箱保存。

1.5　根际微生物代谢特性测定

应用Biolog-eco微平板法对根际微生物代谢特征进行分析，根际土壤样品准备与测定方法参考崔佩佩等的[21,23-24]方法，Biolog-eco生态板使用美国Biolog公司的ECO MicroPlate，使用多功能酶标仪在590 nm读数。

平均颜色变化率（AWCD）被研究者用来描述微生物群落代谢活性强度，计算公式如下：

$$\mathrm{AWCD}=\sum(Ci-R)/31 \tag{1}$$

式中：Ci 为所测定的31个碳源孔的吸光值；R 为对照孔的吸光值；$Ci-R<0$ 的数值全部记为0。

微生物代谢功能多样性综合指数包括：Shannon-Wiener指数、Richness指数、Pielou指数、Simpson指数。

Shannon-Wiener指数（H）是研究物种种群分布程度时应用最广泛的指标，值越大代表微生物群落功能多样性越高，计算公式为：

$$H=-\sum Pi\ln Pi \tag{2}$$

式中：Pi 为第 i 孔吸光值(Ci)与对照孔吸光值(R)之差与整个平板吸光值总和的比值，即 $Pi=(Ci-R)/\sum(Ci-R)$。

Richness指数（S）是指微平板中被利用碳源的总数，即微平板中每孔($Ci-R$)>0.25的孔数。

Pielou指数（E）是指微生物利用微平板中所有碳源的水平，值越大微生物对碳源利用率越高，计算公式为：

$$E=H/\ln S \tag{3}$$

Simpson指数（Ds）对富集种群敏感，是对微生物群落多样性方面的集中评估，值越大微生物群落多样性越高，计算公式为：

$$Ds=1-\sum Pi^2 \tag{4}$$

以上计算方法参考张鹏等[25-27]的方法。

1.6 数据统计与分析

利用WPS Excel对数据进行整理汇总,用SPSS 25.0对数据进行ANOVA单因素方差分析和PCA分析,对各组测定数据进行显著水平的多重比较,用Origin 2018进行图表制作。

2 结果与分析

2.1 紫花苜蓿根际微生物代谢活性及功能多样性分析

根据平均颜色变化率(AWCD值)计算公式,计算不同供磷水平下紫花苜蓿根际微生物在不同培养时间段的AWCD值(图1),随着培养时间的增加,微平板中微生物代谢活性逐渐增强,符合微生物生长变化规律。在培养周期内,AWCD值呈现逐渐增高的趋势,在培养前48 h,微生物增长速率缓慢,没有完全适应Biolog-eco生态板中碳源环境,AWCD值增长曲线平缓。通过计算,在培养72 h,各磷肥处理的AWCD值曲线斜率最大,微生物进入指数增长期,微生物活性最高。在培养120 h后,微生物对碳源的利用率曲线逐渐趋于平缓。选取微生物增长最快的48~72 h时间段,对微生物碳源利用多样性指数进行分析。

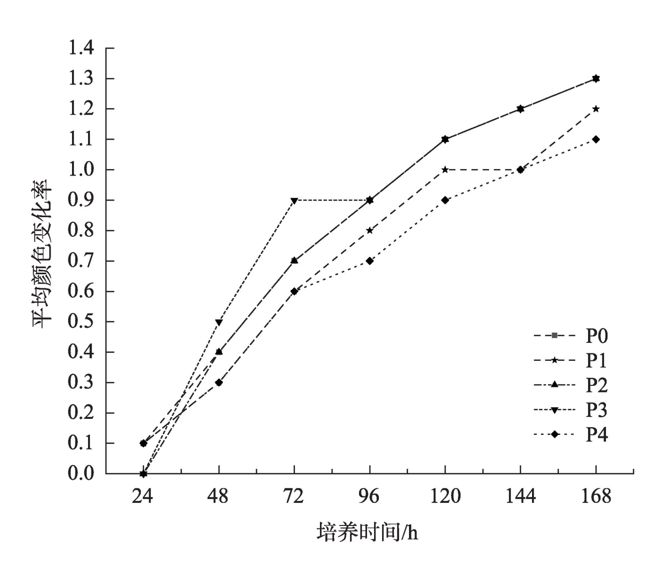


图1 不同磷肥水平处理对根际土壤微生物活性的影响

Fig. 1 Effect of different phosphorus fertilizer level treatments on rhizosphere soil microbial activity

根据Biolog-eco微平板连续培养72 h各碳源孔的光密度值(用来表示对碳源利用程度),计算72 h的根际微生物代谢功能多样性指数,不同供磷水平下苜蓿根际微生物群落多样性指数变化规律不同(表1),Richness指数在P3磷肥水平时达到最大值,P3与P1磷肥水平对比有显著性差异($P<0.05$);Simpson指数在P3磷肥水平时达到最大值,P3与P4磷肥水平对比有显著性差异($P<0.05$);Pielou指数在P1磷肥水平时达到最大值,比P0、P2、P3和P4分别提高20%、14.6%、18.3%和12.5%;Shannon-Wiener指数在各处理间无明显差异。

2.2 紫花苜蓿根际微生物利用碳源能力的分析

如图2所示,在培养72 h不同供磷水平下,紫花苜蓿根际微生物对多聚物类碳源的有效利用P3与P4之间有显著性差异($P<0.05$);与P0、P1、P2和P4相比,氨基酸类碳源的利用率在P3时分别增加了27.9%、30.8%、55.0%和69.6%;微生物对酚酸类碳源在P0时利用率最高,利用程度由高到低排列为:P0>P3>P2>P4>P1;不同磷肥处理下微生物对胺类碳源的利用率没有显著性差异($P<0.05$),不同磷肥处理下微生物对羧酸类碳源的利用表现为P3、P4处理间有显著性差异($P<0.05$);对碳水化合物类碳源利用有显著性差异($P<0.05$),利用程度由高到低排列为:P3>P0>P2>P1>P4。

2.3 紫花苜蓿根际微生物利用碳源能力的主成分分析

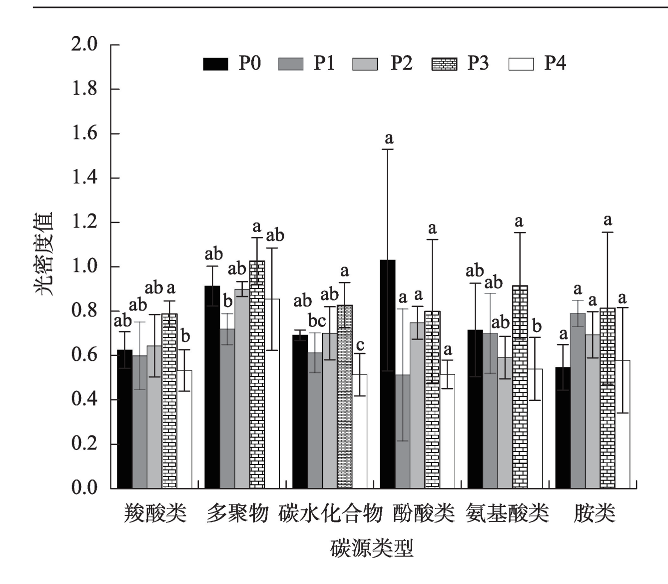
根据主成分分析的原理,从不同磷肥处理的31个碳源中提取了特征值>1的9个主要成分(表2),

表1 紫花苜蓿根际微生物群落72 h多样性指数

Tab. 1 72 h diversity index of *Medicago sativa* rhizosphere microbial community

磷水平/(kg·hm^{-2})	Shannon-Wiener指数	Pielou指数	Richness指数	Simpson指数
0(P0)	2.972±0.107a	1.023±0.041b	19.0±4.4ab	0.942±0.004ab
75(P1)	2.976±0.090a	1.227±0.072a	12.0±2.6b	0.940±0.007ab
150(P2)	2.964±0.062a	1.070±0.040b	16.3±2.5ab	0.940±0.004ab
300(P3)	3.045±0.030a	1.037±0.123b	20±5.291a	0.947±0.003a
450(P4)	2.872±0.143a	1.090±0.082ab	15±4.583ab	0.931±0.011b

注:不同字母代表同一指数不同磷肥水平在0.05水平下差异性显著($P<0.05$)。



注：不同字母代表相同碳源不同磷肥水平下差异性显著($P<0.05$)。

图2　不同磷肥水平紫花苜蓿根际微生物对6类碳源利用程度

Fig. 2　Utilization of six carbon sources by *M. sativa* rhizosphere microorganisms at different P fertilizer levels

这9个主要成分累计贡献率为91.15%。其中，累计贡献率最大的主成分为第一主成分，贡献率达27.05%，第二主成分次之，其累计方差贡献率达到18.00%，前2个主成分基本可以解释大部分的变异来源，第三到第九主成分贡献率较小。可见，各供磷水平下，微生物对碳源的利用程度不同，主要的变异来源为前2个主成分。所以，本研究利用前2个主成分来解释紫花苜蓿根际微生物群落利用碳源功能的差异性。由表3可知，第一主成分PC1载荷因子在0.5以上的有16种基质碳源，其中载荷因子在0.6以上的有10种基质碳源，羧酸类1种，多聚物类2种，碳水化合物类3种，氨基酸类4种，其中α-环式糊精载荷因子最大，为0.807；第二主成分PC2的载荷因子在0.5以上的有8种，其中羧酸类2种，多聚物类1种，氨基酸类2种，碳水化合物类2种，胺类1种，其中肝糖载荷因子最大，为0.765。不同供磷水平下微生物对碳源利用特性的PCA图谱如图3所示，在PC1轴上，P0、P1、P2在正负方向均有分布，得分主体主要分布在负方向，P3主要分布在坐标轴的正方向，得分区主要在2.72~7.66之间；P4分布在坐标轴的负方向，得分区在-1.65~-4.11之间。在PC2轴上，P2、P4均分布在负方向，得分区间分别是-0.96~-2.6、-0.29~-2.41；P0、P1、P3在正负方向均有分布，得分主体主要在正方向。从分布象限来看，P4、P2主要分布在第三象限，P0主要分布在第二象限，P1分布在第一、第二象限，P3分布在第一、第四象限。以上结论表明，磷肥水平的高低，能显著影响微生物对碳源的利用率。

3　讨 论

本研究通过大田试验的方法，设置5个磷肥梯度，研究了紫花苜蓿根际微生物的功能多样性，结

表2　主成分初始特征值及累计贡献率

Tab. 2　Initial eigenvalues and cumulative contribution of principal components

成分	初始特征值			提取载荷平方和		
	总计	方差百分比/%	累计贡献率/%	总计	方差百分比/%	累计贡献率/%
第一主成分	8.386	27.052	27.052	8.386	27.052	27.052
第二主成分	5.581	18.004	45.056	5.581	18.004	45.056
第三主成分	3.893	12.559	57.615	3.893	12.559	57.615
第四主成分	2.482	8.005	65.620	2.482	8.005	65.620
第五主成分	2.242	7.232	72.852	2.242	7.232	72.852
第六主成分	1.916	6.181	79.033	1.916	6.181	79.033
第七主成分	1.571	5.066	84.099	1.571	5.066	84.099
第八主成分	1.110	3.581	87.679	1.110	3.581	87.679
第九主成分	1.075	3.467	91.146	1.075	3.467	91.146
第十主成分	0.915	2.951	94.098			
第十一主成分	0.816	2.631	96.729			
第十二主成分	0.451	1.455	98.184			
第十三主成分	0.399	1.286	99.470			
第十四主成分	0.164	0.530	100.000			

表3 主成分分析下PC1、PC2与分类碳源的相关系数

Tab. 3 Correlation coefficients of PC1, PC2 and categorical carbon sources under principal component analysis

	碳源类型	第一主成分 PC1	第二主成分 PC2
羧酸类	丙酮酸甲酯	0.345	-0.124
	γ-羟基丁酸	0.693	-0.358
	衣康酸	0.439	0.677
	α-丁酮酸	0.515	0.543
	D-苹果酸	0.313	0.214
多聚物类	吐温40	0.353	-0.076
	吐温80	0.666	-0.417
	α-环式糊精	0.807	-0.137
	肝糖	0.418	0.765
碳水化合物类	D-纤维二糖	0.22	-0.511
	α-D-乳糖	0.476	-0.285
	β-甲基-D-葡萄糖苷	0.077	0.307
	D-木糖	0.67	0.397
	i-赤藓糖醇	0.023	0.691
	D-甘露醇	0.514	-0.274
	N-乙酰-D-葡萄糖胺	0.56	-0.214
	D-葡萄糖胺酸	0.483	0.21
	α-D-葡萄糖-1-磷酸	0.675	0.421
	D,L-α-磷酸甘油	0.561	0.518
	D-半乳糖酸-γ-内脂	0.637	0.005
	D-半乳糖醛酸	0.391	-0.303
酚酸类	2-羟基苯甲酸	0.561	-0.375
	4-羟基苯甲酸	0.187	-0.626
氨基酸类	L-精氨酸	0.663	-0.342
	L-天门冬酰胺	0.767	-0.336
	L-苯基丙氨酸	0.78	-0.098
	L-丝氨酸	0.1	0.646
	L-苏氨酸	0.672	-0.211
	甘氨酰-L-谷氨酸	0.563	0.602
胺类	苯乙胺	0.338	0.478
	腐胺	-0.298	0.506

果表明:Biolog微生态板的AWCD值在168 h的培养期间,各个磷肥水平的生长曲线与常规微生物的生长曲线基本一致。AWCD值解释了同一种碳源环境中不同种群微生物对碳源利用能力相互影响的关系[28]。AWCD值与微生物群落密度和微生物活性呈正相关关系[29]。有研究指出,外源磷的添加对微生物群落的代谢活动有催化作用,微生物在缺磷环境中,代谢活性会显著降低[30],与本研究结果相似。本研究结果表明,在P3供磷水平下的AWCD值显著高于其他磷肥处理的AWCD值,说明在高磷环

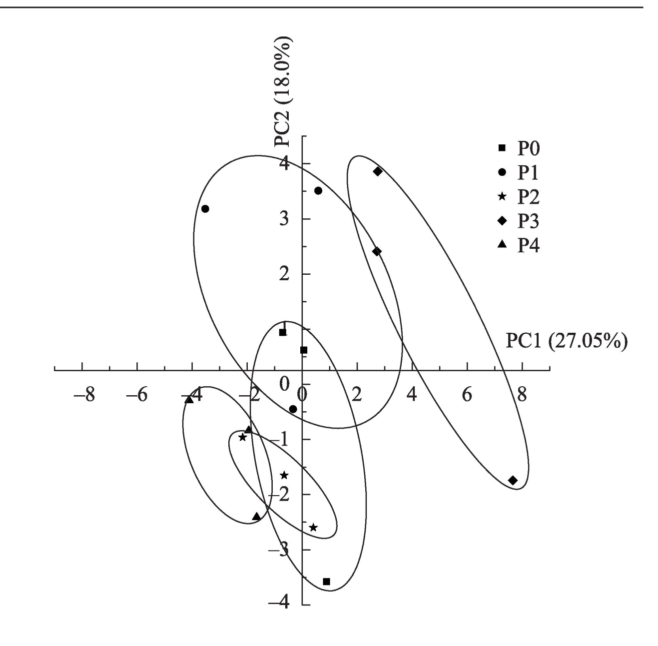


图3 不同供磷水平根际微生物碳源利用特征PCA图谱

Fig. 3 PCA mapping of carbon utilization characteristics of rhizosphere microorganisms at different levels of phosphorus supply

境中,会有效提高紫花苜蓿根际微生物对碳源的利用率,而P4处理各时间段AWCD值均小于P3处理,说明磷肥浓度达到一定值时,对根际微生物群落代谢活性有抑制作用,研究者还发现,植物在受到不同胁迫时,体内会合成专一的应对外在胁迫的分泌物,经过生理生化过程,来调节自身的养分均衡[31]。根际微生物代谢活动与植物根际分泌物有密不可分的联系,当磷肥浓度不同时,植物会分泌不同化学物质来响应土壤环境的变化,从而影响根际微生物的代谢活动。

微生物群落之间代谢功能多样性的差异可以用微生物群落多样性指数来进行描述。武俊男[24]和Tang等[32]研究表明,土壤中营养物质含量的变化可以调节土壤微生物群落的组成,磷肥可以有效提高靶向细菌群落的丰富度。罗汉东[33]研究表明,随着磷肥水平的增加,在油茶林地中土壤的微生物群落均呈先增大后减少的趋势,施磷量为每年每株900 g时,微生物数量达到最大值;施磷量超过900 g时,微生物总量降低。廖朝选等[34]研究表明,施磷肥可以增加大豆微生物数量,0~20 cm土层黔豆10号细菌、放线菌、真菌数量分别增加37.28%、44.34%和56.97%。在本研究中,对不同磷肥浓度下微生物群落的代谢功能多样性试验结果表明:Simpson指数在P3磷肥水平时达到最大值,Richness指数在P3

磷肥水平均显著高于P1磷肥水平，Pielou指数在P1磷肥水平下达到最大值，其原因可能是磷肥浓度达到一定阈值，会破坏土壤原有的生态环境，影响其均匀度[35]。

利用主成分分析的方法描述微生物群落对不同分类碳源的利用情况，更直观了解微生物对各碳源的利用差异。刘俊杰[36]研究表明，大豆在碳源的利用能力上更倾向于碳水化合物、氨基酸、羧酸类，对胺类利用效率比较弱。本研究主成分分析结果表明：与PC1相关系数高的碳源为碳水化合物类（D-木糖、α-D-葡萄糖-1-磷酸、D-半乳糖酸-γ-内脂）、多聚物类（吐温80、α-环式糊精）、羧酸类（γ-羟基丁酸）、氨基酸类（L-精氨酸、L-天门冬酰胺、L-苯基丙氨酸、L-苏氨酸）；与PC2相关系数高的碳源为碳水化合物类（i-赤藓糖醇）、多聚物类（肝糖）、羧酸类（衣康酸）、氨基酸类（L-丝氨酸、甘氨酰-L-谷氨酸），这表明苜蓿根际微生物主要利用碳源为以上4类碳源，与张萌萌等[37]研究结果相似。P0和P1在空间分布上离散程度高于P3、P4，与P2、P3有显著性差异。总体来看，施用磷肥处理的根际微生物对碳源的利用率均大于不施磷肥处理P0，原因可能是施用磷肥可一定程度改变土壤理化性质，导致植物根系分泌物成分变化，土壤中碳源数量和种类会随之改变，微生物可以利用的碳源也会有所变化。

4 结 论

施用磷肥可以有效增加紫花苜蓿根际微生物群落的代谢活性，提高紫花苜蓿根际微生物对不同碳源的利用率，使微生物群落代谢多样性指数显著增加。但是磷肥浓度过高时，会抑制微生物群落的生长代谢，从而降低微生物的代谢功能活性，微生物群落的Simpson指数下降，从而降低了对各类碳源的利用率。由此可见，土壤中磷素的浓度可以调节根际微生物代谢活性，这种调节对紫花苜蓿根际微生态中磷循环是必不可少的，因此，施用适量磷肥对紫花苜蓿根际微生物代谢有积极作用，掌握最优施磷量（300 kg·hm^{-2}）是促进这种作用的最有效的方式，对于促进紫花苜蓿根际活性以及提高紫花苜蓿对土壤中的养分利用至关重要，对苜蓿的农业生产提供理论依据。

参考文献（References）：

[1] 王亚玲, 李晓芳, 师尚礼, 等. 紫花苜蓿生产性能构成因子分析与评价[J]. 中国草地学报, 2007, 29(5): 8-15. [Wang Yaling, Li Xiaofang, Shi Shangli, et al. Analysis and evaluation of alfalfa production performance components of different alfalfa[J]. Chinese Journal of Grassland, 2007, 29(5): 8-15.]

[2] 王文信. 中国苜蓿种植业发展的对策[J]. 北京农学院学报, 2022, 37(1): 117-120. [Wang Wenxin. Countermeasures for the development of alfalfa planting industry in China[J]. Journal of Beijing University of Agricultural, 2022, 37(1): 117-120.]

[3] 冯骁骋, 曾洁, 王伟, 等. 我国苜蓿产业发展现状及存在的问题[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2018(2): 135-137. [Feng Xiaopin, Zeng Jie, Wang Wei, et al. The present situation and existing problems of alfalfa industry development in our country[J]. Heilongjiang Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2018(2): 135-137.]

[4] 陆太伟, 石雅飞, 李进文, 等. 磷肥对紫花苜蓿及其根瘤生长的影响研究[J]. 农业与技术, 2013, 33(11): 3-4. [Lu Taiwei, Shi Yafei, Li Jinwen, et al. Study on the effect of phosphorus fertilizer on the growth of alfalfa and its root nodules[J]. Agriculture & Technology, 2013, 33(11): 3-4.]

[5] 王园园, 张红香, 金成吉, 等. 磷肥对紫花苜蓿生产力影响的研究概述[J]. 中国农学通报, 2020, 36(35): 72-77. [Wang Yuanyuan, Zhang Hongxiang, Jin Chengji, et al. Effects of phosophorus fertilizer on alfalfa[J]. Chinese Agronomy Bulletin, 2020, 36(35): 72-77.]

[6] 王泽环. 不同磷水平对黄花苜蓿产量和品质的影响[D]. 呼和浩特: 内蒙古大学, 2008. [Wang Zehuan. Effect of Phosphorus Levels on Forage Yield and Quality on Medicago Falcata[D]. Hohhot: Inner Mongolia University, 2008.]

[7] 张杰. 施肥对紫花苜蓿生长特性和土壤肥力的影响研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2007. [Zhang Jie. Study on the Effect of Fertilization between Alfalfa Characteristics and Soil Fertility[D]. Yangling: Northwest A & F University, 2007.]

[8] 蔺蕊. 北疆盐碱地苜蓿施肥参数与高产施肥初步研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2004. [Lin Rui. Intial Study on Fertilization Method for High Yield of Alfalfa on Saline Land in North Xinjiang[D]. Urumqi: Xinjiang Agricultural University, 2004.]

[9] Wang P, Snijders R, Kohlen W, et al. *Medicago* SPX1 and SPX3 regulate phosphate homeostasis, mycorrhizal colonization, and arbuscule degradation[J]. The Plant Cell, 2021, 33(11): 3470-3486.

[10] 田莉. 植物的磷素营养和土壤磷的生物有效性研究[J]. 农业与技术, 2015, 35(20): 22. [Tian Li. Research on phosphorus nutrition of plants and biological effectiveness of soil phosphorus[J]. Agriculture and Technology, 2015, 35(20): 22.]

[11] 张瑞福. 根际微生物: 农业绿色发展中大有作为的植物第二基因组[J]. 生物技术通报, 2020, 36(9): 1-2. [Zhang Ruifu. Rhizosphere microorganisms: The second genome of plants with great

potential in green agriculture[J]. Biotechnology Bulletin, 2020, 36(9): 1-2.]

[12] 徐文静, 靳晓东, 杨秋生. 植物根际微生物的影响因素研究进展[J]. 河南农业科学, 2014, 43(5): 6-12. [Xu Wenjing, Jin Xiaodong, Yang Qiusheng. Research progress on factors influencing plant rhizosphere microorganism[J]. Journey of Henan Agricultural Science, 2014, 43(5): 6-12.]

[13] 覃潇敏, 郑毅, 汤利, 等. 施氮对间作条件下玉米、马铃薯根际微生物群落功能多样性的影响[J]. 农业资源与环境学报, 2015, 32(4): 354-362. [Qin Xiaomin, Zheng Yi, Tang Li, et al. Effects of nitrogen application rates on rhizosphere microbial community functional diversity in maize and potato intercropping[J]. Journal of Agricultural Resources and Environment, 2015, 32(4): 354-362.]

[14] 付家晖, 薛娜娜, 潘响亮. 博斯腾湖人工湿地中微生物群落空间分布特征[J]. 干旱区研究, 2020, 37(2): 487-495. [Fu Jiahui, Xue Na'na, Pan Xiangliang. Spatial distribution of microbial communities in the wetlandsewage treatment system constructed on Bosten Lake[J]. Arid Zone Research, 2020, 37(2): 487-495.]

[15] 樊晓刚, 金轲, 李兆君, 等. 不同施肥和耕作制度下土壤微生物多样性研究进展[J]. 植物营养与肥料学报, 2010, 16(3): 744-751. [Fan Xiaogang, Jin Ke, Li Zhaojun, et al. Soil microbial diversity under different fertilization and tillage practices: A review[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2010, 16(3): 744-751.]

[16] 徐接亮, 张凤华, 李变变, 等. 施肥对油莎豆根际微生物群落特性的影响[J]. 干旱区研究, 2021, 38(6): 1741-1749. [Xu Jieliang, Zhang Fenghua, Li Bianbian, et al. Effects of fertilization on characteristics of soil microbial community in the rihizosphere of *Cyperus esculentus* in the sandy area of Xinjiang[J]. Arid Zone Research, 2021, 38(6): 1741-1749.]

[17] Song C C, Liu D Y, Song Y Y, et al. Effect of exogenous phosphorus addition on soil respiration in *Calamagrostis angustifolia* freshwater marshes of Northeast China[J]. Atmospheric Environment, 2011, 45(7): 1-4.

[18] 单佩佩. 牡丹体内外磷循环和根际微生物种群构成对外源磷素的响应[D]. 泰安: 山东农业大学, 2016. [Shan Peipei. Phosphorus Cycling in Peony Vivo and Vitor, Rhizosphere Microorganisms Constitute Response to Exogenous Phosphorus Removal[D]. Tai'an: Shandong Agricultural University, 2016.]

[19] 湛钰, 高丹丹, 盛荣, 等. 磷差异性调控水稻根际nirK/nirS型反硝化菌组成与丰度[J]. 环境科学, 2019, 40(7): 3304-3312. [Zhan Yu, Gao Dandan, Sheng Rong, et al. Differential responses of rhizospheric nirK-and nirS-type denitrifier communities to different phosphorus levels in paddy soil[J]. Environmental Science, 2019, 40(7): 3304-3312.]

[20] Cory C C, Alan R T. Nutrient additions to a tropicalrain forest drive substantial soil carbon dioxide losses to the atmosphere[J]. PNAS, 2006, 103(27): 10316-10321.

[21] 崔佩佩. 不同施肥对高粱生长及根际微生物功能多样性的影响[D]. 太原: 山西大学, 2018. [Cui Peipei. Effects of Different Fertilization on the Growth of Sorghum and the Functional Diversity of Rhizosphere Microorganisms[D]. Taiyuan: Shanxi University, 2018.]

[22] 陈波浪, 蒋平安, 盛建东. 磷肥对棉田土壤有效磷及土壤酶活性的影响[J]. 土壤通报, 2014, 45(1): 185-188. [Chen Bolang, Jiang Ping'an, Sheng Jiandong. Effect of phosphorus fertilizers on soil available phosphorus and soil enzyme activity in cotton field[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2014, 45(1): 185-188.]

[23] 郑丽萍, 龙涛, 林玉锁, 等. Biolog-ECO解析有机氯农药污染场地土壤微生物群落功能多样性特征[J]. 应用与环境生物学报, 2013, 19(5): 759-765. [Zheng Liping, Long Tao, Lin Yusuo, et al. Biolog-ECO analysis of the microbial community functional diversity in organochlorine contaminated soil[J]. Chinese Journal of Applied & Environmental Biology, 2013, 19(5): 759-765.]

[24] 武俊男. 长期不同施肥对玉米根际微生物多样性及功能菌群的影响[D]. 长春: 吉林农业大学, 2018. [Wu Junnan. Effects of Long-term Different Fertilization on Microbial Diversity and Functional Microflora in Corn Rhizosohere[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2018.]

[25] 张鹏, 李颖, 王业林, 等. 短脚锦鸡儿灌丛对植物群落和土壤微生物群落的促进效应研究[J]. 干旱区研究, 2021, 38(2): 421-428. [Zhang Peng, Li Ying, Wang Yelin, et al. The positive effect of *Caragana breviflora* shrubs on plant communities and soil microbial communities in the inner Mongolia desert region[J]. Arid Zone Research, 2021, 38(2): 421-428.]

[26] 高晓奇, 肖能文, 叶瑶, 等. 基于Biolog-ECO分析长庆油田土壤微生物群落功能多样性特征[J]. 应用与环境生物学报, 2014, 20(5): 913-918. [Gao Xiaoqi, Xiao Nengwen, Ye Yao, et al. Analysis of microbial community functional diversity in the Changqing Oilfield based on Biology-ECO method[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2014, 20(5): 913-918.]

[27] Yuan W, Yu L F, Zhang J C, et al. Relationship between vegetation restoration and soil microbial characteristics in degraded Karstregions: A case study[J]. Pedosphere, 2011, 21(1): 132-138.

[28] Garland J L. Analysis and interpretation of community-level physiological profiles in microbial ecology[J]. FEMS Microbiology Ecology, 1997, 24(4): 289-300.

[29] Choi K, Dobbs F C. Comparison of two kinds of biolog micro-plate (GN and ECO) in their ability to distinguish among aquatic microbial communities[J]. Journal of Microbiological Methods, 1999, 36(3): 203-213.

[30] 高明霞, 孙瑞, 崔全红, 等. 长期施用化肥对塿土微生物多样性的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2015, 21(6): 1572-1580. [Gao Mingxia, Sun Rui, Cui Quanhong, et al. Effects of long-term chemical fertilizer application on microbial diversity in anthropogenic loess soil[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizer, 2015, 21(6): 1572-1580.]

[31] 张锡洲, 李廷轩, 王永东. 植物生长环境与根系分泌物的关系

[J]. 土壤通报, 2007, 38(4): 785–789. [Zhang Xizhou, Li Tingxuan, Wang Yongdong. Relationship between growth environment and root exudates of plants: A review[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2007, 38(4): 785–789.]

[32] Tang X Y, Placella S A, Daydé F, et al. Phosphorus availability and microbial community in the rhizosphere of inter cropped cereal and legume along a P-fertilizer gradient[J]. Plant & Soil, 2016, 407(1–2): 1–16.

[33] 罗汉东. 不同磷水平施肥对油茶生长及土壤环境动态影响[D]. 南昌: 江西农业大学, 2017. [Luo Handong. Effect of Different Levels of Phosphorus Fertilization Growth and Soil Enviroment Dynamic of Camellia oleifera Abel[D]. Nanchang: Jiangxi Agricultural University, 2017.]

[34] 廖朝选, 钱青青, 齐凯, 等. 施磷肥对大豆土壤微生物数量及酶活性的影响[J]. 贵阳学院学报(自然科学版), 2020, 15(3): 73–79. [Liao Zhaoxuan, Qian Qingqing, Qi Kai, et al. Effect of phosphorus fertilizer on soil microbial groups and enzyme activity of different soybean varieties[J]. Journal of Guiyang University(Natural Science Edition), 2020, 15(3): 73–79.]

[35] 张恩平, 田悦悦, 李猛, 等. 长期不同施肥对番茄根际土壤微生物功能多样性的影响[J]. 生态学报, 2018, 38(14): 5027–5036. [Zhang Enping, Tian Yueyue, Li Meng, et al. Effects of various long-term fertilization regimes on soil microbial functional diversity in tomato rhizosphere soil[J]. Acta Ecologica Sinica, 2018, 38 (14): 5027–5036.]

[36] 刘俊杰. 磷浓度对大豆根际微生物群落结构及功能的影响[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2009. [Liu Junjie. Effect of Different Phosphorus Concentration on Microbial Community Structure and Function in Soybean Rhizosphere[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2009.]

[37] 张萌萌, 敖红, 张景云, 等. 建植年限对紫花苜蓿根际土壤微生物群落功能多样性的影响[J]. 草业科学, 2014, 31(5): 787–796. [Zhang Mengmeng, Ao Hong, Zhang Jingyun, et al. Effects of planting years on functional diversity of carbon-metabolic microbial community in rhizosphere soils of alfalfa[J]. Grassland Science, 2014, 31 (5): 787–796.]

Effect of different phosphorus supply levels on rhizosphere microbial functional diversity of *Medicago sativa*

XING Linmu, LI Qiang, GAO Yuanqianhui, LI Ning

(College of Resources and Environment, Xinjiang Agricultural University/Xinjiang Key Laboratory of Soil and Plant Ecological Processes, Urumqi 830052, Xinjiang, China)

Abstract: Exploring the metabolic functional diversity of *Medicago sativa* rhizosphere microorganisms at different levels of phosphorus supply can further our understanding of the mechanism of efficient fertilizer use by *M. sativa*. Applying the biolog method through field experiments, we investigated the metabolic characteristics of the *M. sativa* rhizosphere microbial community under five different levels of phosphorus supply. The results showed that the application of phosphorus fertilizer could significantly improve the metabolic activity of *M. sativa* rhizosphere microorganisms; the Simpson and Richness indexes reached maximum values when the phosphorus supply level was P3 (300 $kg \cdot hm^{-2}$), which improved the utilization of different classified carbon sources by microorganisms. When the phosphorus fertilizer concentration was too high, it significantly reduced the Simpson index of the microbial community and also reduced the utilization of various carbon sources by microorganisms. Principal component analysis showed that there were significant differences in the utilization of different carbon sources by rhizosphere microorganisms at different levels of phosphorus supply. The smallest differences in the utilization of various carbon sources by the microbial community were observed at the highest level of phosphorus supply (P4, 450 $kg \cdot hm^{-2}$).

Keywords: *Medicago sativa*; phosphorus fertilizer; rhizosphere microorganisms; metabolic diversity